



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



PROJET DE FIN D'ETUDES

Pour l'Obtention du diplôme

LICENCE SCIENCES ET TECHNIQUES (LST)

Spécialité : Sciences de Biologie Appliquée et Santé (SBAS)

Intitulé

Description des différents tests réalisés
au Laboratoire d'Hématologie

Réalisé à

Centre Hospitalier Provincial d'Ifrane

Présenté à

La Faculté des Sciences et Techniques De Fès

(Département de **Biologie**)

Par

BALLAOUI Mouad

Encadré par

ELABIDA Kaouakib Professeur à la FST de Fès

HAJOUI Fatima zahra Pharmacienne Biologiste au CHP Ifrane

Soutenu le **17 juin 2015**, devant le jury de soutenance

Présidente : Pr. ELABIDA Kaouakib

Examinatrice : Pr. TLEMÇANI Rachida

Encadrante : Dr. HAJOUI Fatima zahra

Année universitaire 2014/2015



REMERCIEMENTS:

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sentiments les meilleurs aux personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail, et pour leurs qualité d'encadrement.

Ces remerciements vont tout particulièrement à mon Encadrante le Professeur Kaouakib ELABIDA, Enseignante Chercheur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, qui m'a apporté son aide, son soutien et ses conseils le long de ce stage, également pour *son enthousiasme qui a constitué un précieux soutien, et particulièrement pour sa confiance en moi, même avant de commencer mon stage.*

Je remercie également Docteur Fatima Zahra Hajoui, Pharmacienne Biologiste au CHP d'Ifrane, qui m'a beaucoup aidé par son expérience et ses informations. Je la remercie pour sa gentillesse, pour son encouragement durant toute la période du stage, et pour m'avoir bien accueilli.

Je tiens également à faire passer mes chaleureux remerciements au Professeur TLEMÇANI Rachida, Enseignante Chercheur à la Faculté des Sciences de Fès, d'avoir assisté à ma soutenance.

J'exprime aussi mes sincères remerciements à toute l'équipe du Laboratoire, les Infirmiers, les Techniciens, les Agents de service, pour m'avoir aidé et bien m'accueilli durant cette période.

Enfin, Je remercie tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à l'élaboration de ce manuscrit : mes amis, pour leurs conseils, mes proches pour leur soutien.



SOMMAIRE

REMERCIEMENTS

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS ET ACRONYMES	4
Les mots clés.....	5
Résumé.....	6
INTRODUCTION.....	7
PRESENTATION DU CHP D'IFRANE.....	8
Description des différentes techniques effectués au Laboratoire.....	11
Chapitre I : Hématologie.....	11
A- L'Hémogramme.....	11
I- Description générale.....	11
1- Prélèvement.....	11
2- Caractéristiques de l'appareil de la NFS.....	11
II- Description.....	13
1- Eléments mesurés.....	13
2- Les constantes érythrocytaires.....	15
B- Le Frottis Sanguin.....	16
1- Principe.....	16
2- Réactifs.....	16
3- Mode opératoire.....	16
4- Etude morphologique des cellules hématopoïétiques..	17
5- Morphologie et variations physiopathologiques des cellules hématopoïétiques.....	18
C- Vitesse de sédimentation.....	21
Chapitre II : L'Hémostase.....	23
A- Taux de prothrombine.....	23
B- Temps de Céphaline Activée.....	25
Chapitre III : Immuno-hématologie.....	27
A- Goupage sanguin ABO.....	27
1- Principe.....	27
2- Réalisation.....	27
3- Transfusion sanguine.....	28
CONCLUSION.....	29
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUESWEBOGRAPHIQUES	



LISTE DES TABLEAUX

- **Tableau 1: Tableau1:Le personnel de CHP Ifrane**
- **Tableau 2: Ensemble d'Examens réalisés au Laboratoire en 2014**
- **Tableau 3: Réactifs de l'appareil Sysmex**
- **Tableau 4: Exemple d'Hémogramme**
- **Tableau 5: Variations physiopathologiques des Leucocytes**
- **Tableau 6: Variations physiopathologiques des Plaquettes**
- **Tableau 7: Valeurs normales de la Vitesse de sédimentation**
- **Tableau 8: Variations physiopathologiques de la Vitesse de Sédimentation**

LISTE DES FIGURES

- **Figure 1 : Les différents examens réalisés en Sérologie et leur principe**
- **Figure 2 : Les différents examens réalisés en Hématologie et leur principe**
- **Figure 3 : Les différents examens réalisés en Biochimie et leur principe**
- **Figure 4 : Réalisation du groupage sanguin (BETH-VINCENT et SIMONIN) et groupage de Rhésus**
- **Figure 5 : Types des Ag et Ac retrouvés dans le sang des différents Phénotypes sanguins**
- **Figure 6 : Différentes transfusions possibles entre donneur et receveur**

LISTE DES ABBREVIATIONS ET ACRONYMES :

Abréviations	Désignations
CHP	Centre Hospitalier Provincial
CRP	Protéine C Réactive
ASLO	Anti-Strepto Lysine O
NFS	Numération Formule Sanguine
TP	Taux de Prothrombine
TCK	Temps de Céphaline Kaolin
VS	Vitesse de Sédimentation
TPHA	Treponema Pallidum Haemagglutination Assay
VDRL	Veneral Disease Research Laboratory
HBG	Hémoglobine
VGM	Volume Globulaire Moyen
HCT	Hématocrite
TCMH	Teneur Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
CCMH	Concentration Corpusculaire Moyenne en Hémoglobine
INR	International Normalised Ratio
P.N	Polynucléaires
EDTA	Ethylène Diamine TétraAcétique
ISI	Index de Sensibilité International



Les mots clés :

- **Hématologie** : Science qui étudie la physiologie et la pathologie du sang, ainsi que les différentes cellules hématopoïétiques (Hématies, Leucocytes et Plaquettes sanguines) et taux liés aux hématies (Hémoglobine et Hématocrite).
- **Hémostase** : Ensemble des mécanismes mises en jeu pour colmater une fuite sanguine, par la formation d'un caillot appelé la Fibrine et sa dissolution.
- **Immuno-hématologie** : est la science consacrée à l'étude des propriétés antigéniques du sang, des réactions immunologiques correspondantes, et des pathologies qui y sont associées.



Résumé :

L'Hématologie est la science qui se charge d'étudier quantitativement et qualitativement les différentes cellules sanguines, ainsi que leur fonctionnement.

Les différentes analyses médicales réalisées au Laboratoire se répartissent entre les domaines d'Hématologie, d'hémostase et d'Immuno-hématologie. Ces différentes analyses peuvent nous spécifier le cas du patient, les variations physiopathologiques responsables de sa maladie ainsi que les différents traitements possibles.

- Les différents tests d'Hématologie sont répartis comme suite :
- Hémogramme : ou Numération Formule Sanguine (NFS) est un test quantitatif et qualitatif qui nous permet de mesurer le taux des différentes cellules hématopoïétiques ainsi que d'autres paramètres liés aux hématies comme l'hémoglobine et l'hématocrite.
- Frottis sanguin : test réalisés lors d'une variation physiopathologique d'un ou de plusieurs types cellulaires, c'est un étalement d'une goutte de sang sur une lame par une lame rodée en utilisant des réactifs spécifiques afin de l'identifier sous microscope.
- Vitesse de Sédimentation : (VS) est la vitesse avec laquelle chutent les hématies en (mm /h), le sang est mis dans un tube appelé tube de Westergreen, l'élévation ou la diminution de cette vitesse peuvent être témoins d'une pathologie.
- Les tests d'Hémostase sont comme suite :
- Temps de Quick : (TQ) est le temps nécessaire à la recalcification du plasma après l'ajout d'un facteur appelé le Thromboplastine calcique.
- Temps de Céphaline Activée : (TCA) est le temps nécessaire à la recalcification des facteurs suivants : le céphaline plus kaolin et la solution CaCl_2 (0.025 mol).
- Test d'Immuno-hématologie et particulièrement :
- Groupage sanguin ABO : consiste à une agglutination Antigènes et Anticorps sur une plaque, qui nous permet d'identifier le type du sérum et du rhésus, ainsi que le type d'Antigènes et Anticorps retrouvés chez chaque patient.



INTRODUCTION

Dans ce rapport je vais essayer de décrire les différents tests et techniques réalisés au sein du Laboratoire d'Hématologie du Centre Hospitalier Provincial (CHP) d'Ifrane.

Alors quels sont les différentes analyses médicales réalisées au Laboratoire d'hématologie? Quel est leur principe ? Et quelles sont les valeurs normales et les variations physiopathologiques des différents paramètres mesurés ?

L'hématologie est la branche de la [médecine](#) qui étudie le [sang](#) et ses [maladies](#) . Elle étudie plus particulièrement les [cellules sanguines](#) dont l'origine est [hématopoïétique](#) (synthèse de ces cellules dans la moelle osseuse) et qui ont un rôle d'oxygénation, d'[immunité](#) et de [coagulation](#).

Ces différentes techniques réalisées au Laboratoire se répartissent entre des techniques :

- d'**Hématologie** :
 - Numération Formule Sanguine (NFS)
 - Frottis sanguin
 - Vitesse de Sédimentation (VS)
- d'**Hémostase** :
 - Temps de Quick (TQ) et Taux de Prothrombine (TP)
 - Temps de Céphaline Activé (TCA)
- d'**Immuno-hématologie** :
 - Groupage sanguin ABO

Le médecin peut demander un de ces examens ou plus pour rechercher le retentissement d'une maladie, les effets secondaires d'un médicament ou dans le cadre d'un bilan pré opératoire,

PRESENTATION DU CHP D'IFRANE:

I. Présentation générale de l'hôpital :

1. Principales caractéristiques :

L'hôpital 20 Aout d'Azrou est un établissement hospitalier qui a été construit en 1988, Il est constitué de 3 étages, dont :

- Le rez de chaussée : englobe le Laboratoire (CHP d'Ifrane).
- Deux étages : englobent des Salles d'Accouchement.

2. Ressources humaines :

Tableau1: Le personnel de CHP Ifrane

Personnel	Nombre
Pharmacien Biologiste	1
Major	1
Assistants Médicales	2
Techniciens	7
Infirmiers	2
Secrétaire	1
Agents de service	1
Total	15

II. Présentation du Laboratoire:

1. Locaux:

Le Laboratoire comprend une salle de prélèvement où s'effectuent les prélèvements des patients dits externes, qui ne sont pas hospitalisés, ainsi que des paillasse d'analyses médicales utiles dans les domaines de la Biochimie, l'Immuno-sérologie et l'Hématologie.

2. Domaines et bio-analyses effectuées :

2.1- Immuno-sérologie:

Le domaine d'Immuno-sérologie sert à diagnostiquer les maladies infectieuses et à relever la présence des types particuliers des anticorps ou des antigènes. Le Laboratoire s'occupe à la réalisation des tests suivants:

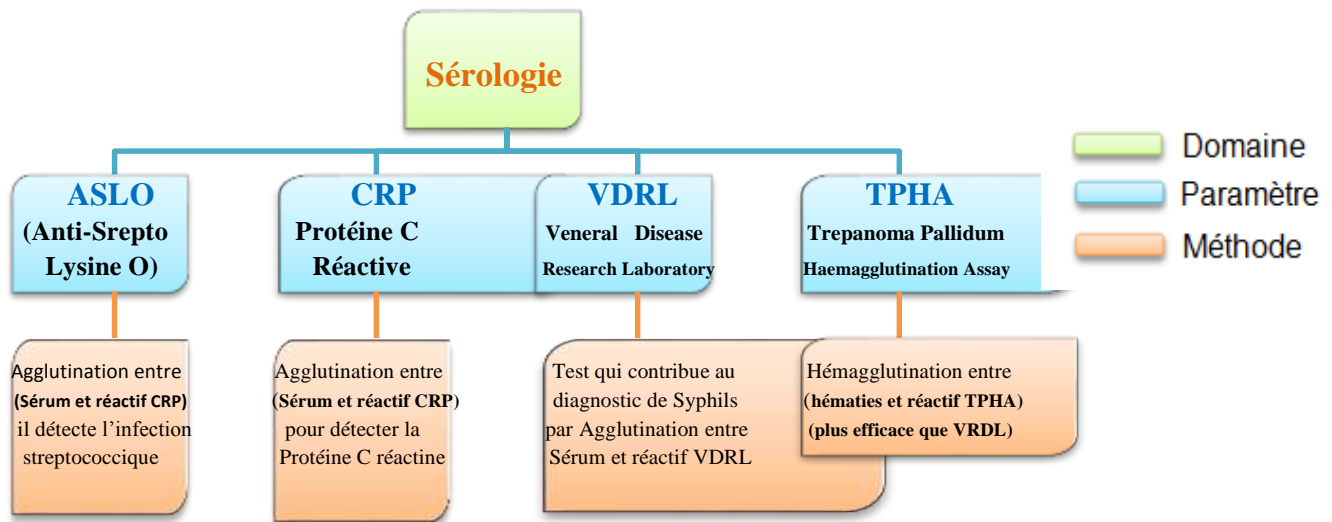


Figure 1 : Les différents examens réalisés en Sérologie et leur principe

2.2 Hématologie

Le domaine d'Hématologie englobe le diagnostic des maladies sanguines telles que les anémies, les anomalies des globules rouges, les problèmes de coagulation et de thrombose. Le Laboratoire s'occupe de la réalisation des tests suivants:

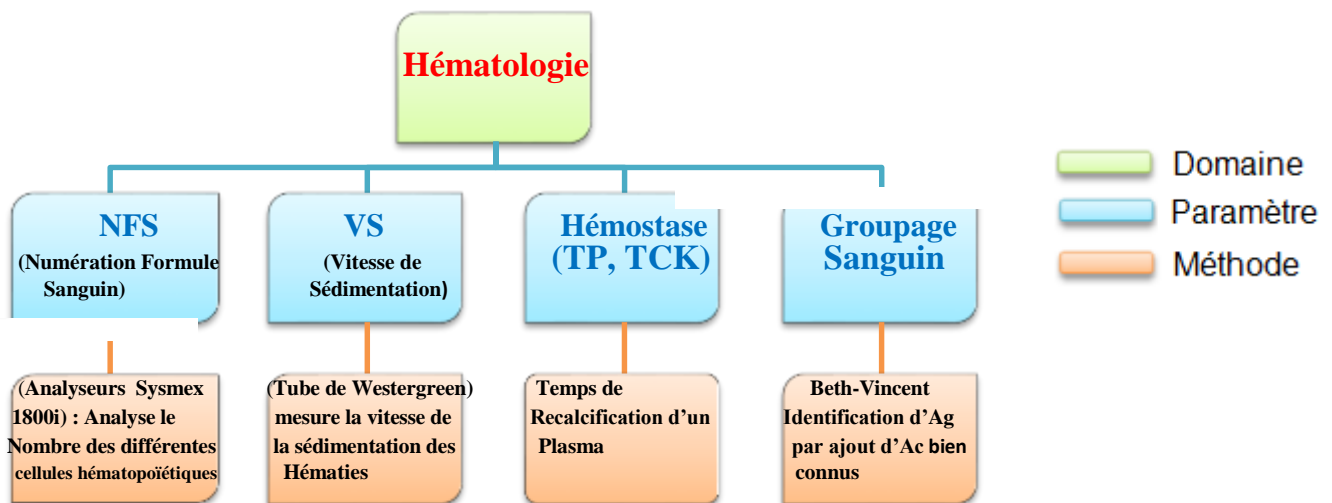


Figure 2 : Les différents examens réalisés en Hématologie et leur principe

2.3 Biochimie

Ce domaine s'occupe essentiellement des examens biochimiques réalisés par la méthode spectrophotométrique, qui est capable de réaliser ces différents paramètres présentés dans la figure suivante:

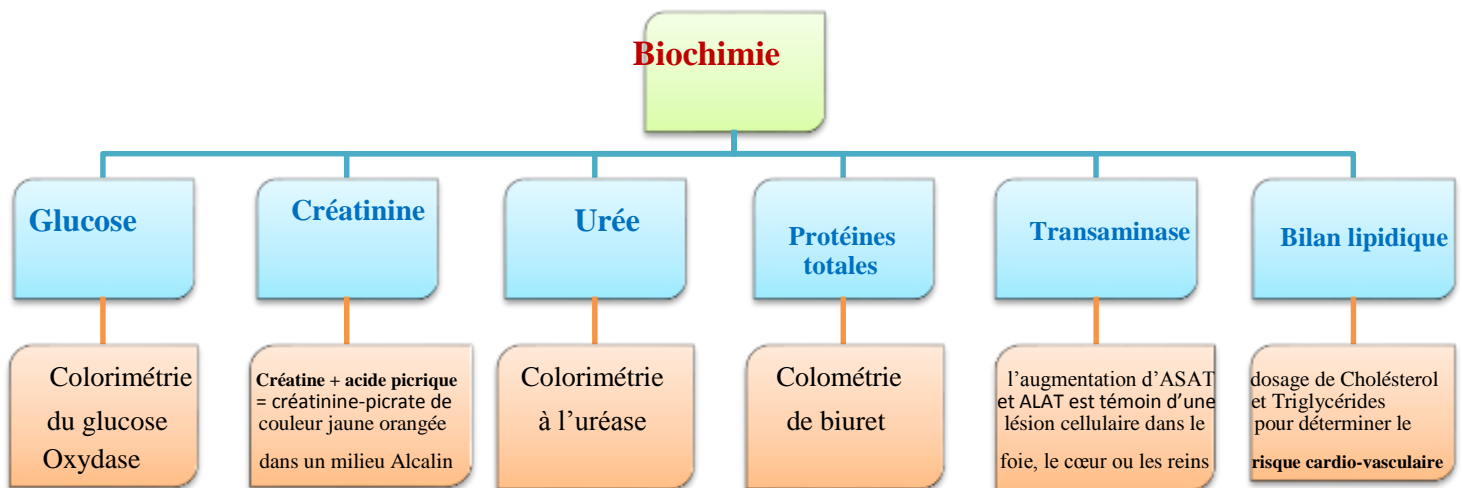


Figure 3 : Les différents examens réalisés en Biochimie et leur principe

3. Examens totaux effectués au Laboratoire en 2014

Tableau 2: Ensemble d'Exams réalisés au Laboratoire en 2014

Examens	Total
Immuno-sérologie	7452
Hématologie et Transfusion	15711
Biochimie	32435
Nombre de Prélèvements effectués au Laboratoire	9701
Nombre de Prélèvements Malades hospitaliers	2313

Description des différentes techniques effectuées au Laboratoire :

Au cours de ce stage j'ai essayé de comprendre le principe et la méthode des différentes techniques réalisées au Laboratoire, le but de ce travail est de décrire uniquement les différentes techniques réalisées en Hématologie. On va essayer même d'interpréter quelques variations physiopathologiques liées à différentes situations physiologiques ou pathologiques.

Chapitre I : HEMATOLOGIE

A-L'Hémogramme

I- Description générale :

L'Hémogramme ou numération Formule Sanguine (NFS) est un examen essentiel pour apprécier un éventuel dysfonctionnement de la moelle osseuse ou des perturbations dites "périphériques". Il apporte des renseignements sur les organes hématopoïétiques, sur les lignées sanguines, sur les processus de défense et sur l'hémostase. Il permet de révéler un grand nombre de pathologies : anémies, augmentation des globules blancs en réponse à une attaque de l'organisme, problème de coagulation et consommation des plaquettes...

La numération formule sanguine, ou hémogramme, est une étude quantitative et qualitative des différents éléments cellulaires du sang : les globules blancs (ou leucocytes), les globules rouges (ou hématies) et les plaquettes sanguines.

Certains paramètres liés à ces éléments sont mesurés:

- Le taux d'hémoglobine = **HBG**
 - Le volume globulaire moyen = **VGM**
- Et d'autres sont calculés:
- L'hématocrite = **HCT**
 - La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine = **TCMH**
 - La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine = **CCMH**

1. Prélèvement :

Classiquement, la numération formules sanguines est réalisée chez un sujet à jeun; cette précaution n'est pas toujours nécessaire. Le prélèvement peut être effectué sur du sang capillaire ou sur du sang veineux recueilli par EDTA (éthylène diamine tétra acétique). Dès que la prise de sang est terminée, il faut homogénéiser le prélèvement par des mouvements de retournement doux pour éviter l'apparition de caillot.

2. Caractéristiques de l'appareil Sysmex XT-1800i :

❖ Introduction

L'appareil Sysmex XT-1800i est un analyseur automatique d'Hématologie. Il s'utilise pour le diagnostic in vitro en laboratoires cliniques. Il est capable d'analyser et de livrer les résultats de 21 paramètres d'un échantillon sanguin.

❖ **Principe :**

L'appareil Sysmex XT-1800i réalise l'analyse du nombre total des leucocytes en utilisant un bloc détecteur photosensible dont le fonctionnement repose sur la méthode de cytométrie de flux et l'utilisation d'un laser à semi-conducteur. Pour les taux d'érythrocytes et de plaquettes sont analysés par le compteur GR qui emploie la méthode de focalisation hydrodynamique. L'hémoglobine (HGB) est analysée par le compteur HGB sur la base de la méthode SLS de détection de l'hémoglobine.

❖ **Réactifs :**

Tableau 3: Réactifs de l'appareil Sysmex

Réactifs	Rôles
CELLPACK	Diluant prévu pour l'utilisation en analyseurs d'hématologie.
STROMATOLYSER-40S	Permet de colorer les leucocytes des échantillons lysés. Il sert à déterminer la formule de quatre populations (Polynucléaires Neutrophiles, Basophiles, Lymphocytes et Monocytes)
SULFOLYSER	C'est un réactif sans cyanure destiné à la détermination de l'hémoglobine. Il lyse les érythrocytes et agit sur la globine de l'hémoglobine pour former un complexe coloré stable.
RET SEARCH 2 (Diluant et Solution colorante)	Conçu pour diluer l'échantillon tout en colorant en même temps les réticulocytes, en vue de détermination de la concentration sanguine en réticulocytes effectuée sur les analyseurs Hématologiques Sysmex.
CELLCLEAN	C'est un détergeant alcalin puissant destiné à supprimer les réactifs lytiques, les résidus cellulaires, et les protéines sanguines restées dans les systèmes de conduits des analyseurs d'hématologie Sysmex.

❖ **Exemple normal d'un patient (Homme) :**

Tableau 4 : Exemple d'Hémogramme

Résultats			Valeurs Normales			
Paramètres	Valeur	Unité	Nouveau-né	Enfant	Femme	Homme
Hématies	4.73	[10 ⁶ /μl]	[5-6]	[3.6-5.5]	[4.8-5.8]	[4.5-6.2]
HGB	14.4	[g/dl]	[14-20]	[11.5-16]	[11.5-16.5]	[13-16]
HCT	41.9	[%]	[45-60]	[37-45]	[35-47]	[40-54]
VGM	88.6	[μm ³]	[90-120]	[70-86]	[76-95]	[80-95]
TCMH	30.4	[pg]	[30-34]	[24-30]	[27-32]	[27-32]
CCMH	34.4	[g/dl]	[32-36]	[32-36]	[32-36]	[32-36]
Plaquettes	253	[10 ³ /μl]	[150-450]	[150-450]	[150-450]	[150-450]
Leucocytes	7.21	[10 ³ /μl]	[15-25]	[4-15]	[4-10.7]	[4-10.7]
Neutrophiles	4.6	[10 ³ /μl]	[6-12]	[2-6]	[2-7.5]	[2-7.5]
Lymphocytes	1.84	[10 ³ /μl]	[5-6]	[3.5-6]	[1.5-4]	[1.5-4]
Monocytes	0.69	[10 ³ /μl]	[0.1-1]	[0.7-1.5]	[0.1-1.2]	[0.1-1.2]
Eosinophiles	0.07	[10 ³ /μl]	[0.05-0.3]	[0.03-0.8]	[0-0.4]	[0-0.4]
Basophiles	0.01	[10 ³ /μl]	[0.01-0.05]	[0-0.5]	[0-0.2]	[0-0.2]

II- Description :

II-1- Eléments mesurés

1-1. Les Globules rouges :

Le globule rouge ou hématie est une cellule biconcave, sans noyau, présente dans le sang circulant auquel elle confère sa couleur rouge. Son diamètre varie de 7 à 8 μ m.

Il contient de l'hémoglobine qui assure le transport de l'oxygène (O₂) et je joue également un rôle dans le transport du gaz carbonique (CO₂). La durée de vie de l'hématie est de 120 jours environ.

➤ Variations physiopathologiques :

Plusieurs facteurs ont un effet significatif sur le nombre des globules rouges tels que l'âge, le sexe l'altitude et l'exercice physique intense.

On constate une augmentation du nombre des érythrocytes dans les polyglobulies, de même une diminution du nombre des érythrocytes est observée fréquemment dans les anémies.

1-2. Les Globules blancs :

Le globule blanc ou leucocyte est une cellule nucléée du sang. Selon la forme du noyau, on distingue deux grandes catégories de leucocytes :

- Les polynucléaires (P.N) = [Neutrophiles, Eosinophiles, Basophiles]
- Les mononuclés = [Monocytes, Lymphocytes]

Les leucocytes sont à la base de l'immunité à médiation cellulaire et humorale. Ils assurent la défense de l'organisme contre les poussées infectieuses, inflammatoires et allergiques. Les globules blancs proviennent de la moelle à partir de lignées bien différenciées.

➤ Variations physiopathologiques :

Tableau 5: Variations physiopathologiques des Leucocytes

Augmentation	Diminution
<u>Hyperneutrophilie</u> - physiologie (effort physique, stress) - infections bactériennes	<u>Leucopénie</u> -infections bactériennes (typhoïde, brucellose, tuberculose) -infections virales (grippe, hépatites virales) -infections parasitaires (leishmaniose) -agents physiques, chimiques et médicamenteux -affections hématologiques (anémie mégaloblastique...)
<u>Hyperéosinophilie</u> - causes parasitaires - causes allergiques	
<u>Hyperbasophilie</u> -allergies - hémopathie maligne	
<u>Hyperlymphocytose</u> - infections virales - certains infections bactériennes	
<u>Hypermonocytose</u> -infections bactériennes -infections virales	

1-3. Les Plaquettes :

La plaquette ou thrombocyte est un élément figuré du sang sans noyau à contenu granuleux dont la taille varie entre 2 à 4 μm . Les plaquettes sont libérées à partir du mégacaryocyte au niveau de la moelle osseuse et jouent un rôle essentiel dans l'hémostase primaire. Elles contiennent le facteur III plaquettaire nécessaire à la formation de la thromboplastine et interviennent dans la coagulation. Les plaquettes jouent un rôle dans la rétraction du caillot sanguin et possèdent une action protectrice vis-à-vis de l'endothélium vasculaire. La durée de vie des plaquettes est estimée à 10 jours environ.

➤ Variations physiopathologiques :

Tableau 6 : Variations physiopathologiques des Plaquettes

Augmentation	Diminution
<u>Thrombocytose primitive</u> - Thrombocytose primitive - Syndrome myéloprolifératif chronique	<u>Thrombopénie centrale</u> - envahissement médullaire (leucémies) - arrêt de maturation des plaquettes (carence en acide folique et/ou Vit. B ₁₂)
<u>Thrombose secondaire</u> - splénectomie - maladies infectieuses - après hémorragie massive - néoplasies	<u>Thrombopénie périphérique</u> anomalie de destruction (immunologie, prothèse valvulaire...) anomalie de distribution (splénomégalie...)

1-4. Hématocrite :

➤ Principe :

L'hématocrite correspond au volume occupé par les hématies entassées par centrifugation dans une quantité du sang connue. Il s'exprime en pourcentage.

➤ Valeurs normales :

- Adulte :
 - Homme 40 à 54 %
 - Femme 37 à 47 %
- Nouveau-né : 44 à 64 %
- Enfant : 36 à 44 %

➤ Variations physiopathologiques :

L'hématocrite est diminué dans les hémodilutions et les anémies surtout microcytaires. Par ailleurs, elle est augmentée dans les polyglobulies et dans les états de déshydratation.

1-5. L'Hémoglobine totale érythrocytaire :

L'hémoglobine est une hétéroprotéine synthétisée par les érythroblastes. Elle est constituée d'une partie protéique, la globine et d'un groupement prosthétique, l'hème.

La globine est formée de quatre chaînes identiques deux à deux. L'hémoglobine par une liaison réversible transporte l'oxygène (O₂) des alvéoles pulmonaires vers les tissus.

Cette fixation est favorisée par le départ du gaz carbonique (CO₂) selon l'effet Bohr.

➤ **Valeurs normales :**

- Adulte :
 - Homme 13 à 16 g/100ml
 - Femme 11.75 à 15 g/100ml

- Nouveau né : 13.5 à 19 g/100ml
- Enfant : 12 à 14 g/100ml

➤ **Variations physiopathologiques :**

L'anémie est définie par une diminution du taux de l'hémoglobine totale érythrocytaire. Les constantes érythrocytaires (VGM, TCMH, CCMH) permettant de classer les anémies.

Le taux d'hémoglobine est augmenté au cours de polyglobulies.

II-2. Les constates érythrocytaires

2-1. Le volume globulaire moyen (VGM)

Il correspond au volume moyen qu'occupe une hématie dans le sang. Il est calculé à partir de la formule suivante :

$$\text{VGM } \mu\text{m}^3 = \frac{\text{Hématocrite (\%)} \times 10}{\text{Nombre d'hématies (millions/mm}^3\text{)}}$$

Chez l'adulte le VGM normal varie entre 85 à 95 μm^3 ; par contre il existe une macrocytose physiopathologique chez le nouveau né.

Selon la valeur du VGM, on peut conclure à :

- VGM = 85 à 95 μm^3 : normocytose
- VGM < 80 μm^3 : microcytose
- VGM > 100 μm^3 : macrocytose

2-2. La teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine (TCMH)

C'est le poids moyen de l'hémoglobine contenue dans les hématies de l'échantillon analysé. Elle est calculée de la façon suivante :

$$\text{TCMH pg} = \frac{\text{Hémoglobine (g/dl)} \times 10}{\text{Nombre d'hématies (millions/mm}^3\text{)}} \quad \text{Pg = picogramme}$$

Le TCMH de l'adulte normal varie entre 27 à 32 pg. Ce paramètre est considéré comme l'un des meilleurs indices d'un déficit de synthèse de l'hémoglobine. Ces variations apparaissent bien plutôt que celle de la CCMH.

2-3. La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH)

Elle représente le pourcentage d'hémoglobine contenu dans la masse globulaire de l'échantillon analysé. C'est aussi le poids en gramme d'hémoglobine contenue dans 100 ml d'hématies. Elle est mesurée de la manière suivante :

$$\text{CCMH \%} = \frac{\text{Hémoglobine (g/dl)} \times 100}{\text{Hématocrite (\%)}}$$

Elle s'exprime en pourcentage, la valeur normale du CCMH varie entre 32 et 36%. Ceci permet de conclure à :

CCMH = 32 à 36% : normochromie

CCMH < 30% : hypochromie

La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ne peut pas dépasser 38% ; donc il n'y a pas d'hyperchromie, car ce pourcentage correspond à une saturation du globule rouge en hémoglobine.

Au-delà de ce chiffre, il y'a une cristallisation avec précipitation incompatible avec le bon fonctionnement de l'hématie.

B- Le Frottis Sanguin

1- Principe :

Le frottis sanguin est un étalement d'une goutte de sang sur une lame de verre, colorée par le May Grunwald Giemsa et lue au microscope optique. L'étude minutieuse du frottis est extrêmement utile au diagnostic cytologique de nombreuses maladies hématologies et parasitaires.

2- Réactif:

- Solution de May Grunwald
- Solution de Giemsa diluée à 10% dans l'eau tamponnée pH= 7

Les solutions de May Grunwald et de Giemsa sont prêtes à l'emploi et se conservent bien dans des flacons bruns bien bouchés à l'abri de la lumière pendant plusieurs mois. La solution tampon se conserve 1 mois à +4°C.

3- Mode opératoire :

❖ Préparation du frottis sanguin :

On dépose une petite goutte du sang de deux millimètres du diamètre environ à un centimètre à l'une des extrémités d'une lame propre posée horizontalement sur un plan dur. Puis, on place le bord de la lame rodée ou de la lamelle sur la lame et on fait glisser celle-ci jusqu'à entre au contact avec la goutte, en maintenant un angle de 45°.

La goutte s'étale le long de l'arête par capillarité. Puis, on pousse dans un mouvement uniforme vers l'autre extrémité de la lame sans atteindre celle-ci.

Le frottis ainsi réalisé est séché rapidement par agitation à l'air. Il ne faut pas oublier de noter l'identité du patient (N) avec un crayon sur la tête du frottis.

❖ **Coloration du frottis :**

- **Première étape :** fixation et coloration par le May Grunwald, pendant 3 à 5 minutes.
- **Deuxième étape :** rinçage à l'eau tamponnée pH= 7, pendant 2 à 3 minutes.
- **Troisième étape :** coloration par le Giemsa dilué, diluée au 1/10 dans l'eau tamponnée, pendant 20 à 30 minutes.
- **Quatrième étape :** rinçage à l'eau tamponnée pH= 7, pendant 2 à 3 minutes.
- **Cinquième étape :** Séchage à l'air libre, au moins 5 minutes avant de les lire.
Au terme de ces étapes, le frottis sanguin est prêt à être étudié au microscope optique.

❖ **Etude du frottis sanguin :**

Pour déterminer la répartition des cellules, la qualité de l'étalement et de la coloration, Il faut tout d'abord contrôler le frottis au grossissement (objectif $\times 10$). Si la répartition est jugée satisfaisante, on dépose une petite goutte d'huile à immersion sur la queue de l'étalement, puis on met on place l'objectif $\times 100$.

La répartition des cellules n'est pas parfaitement égale. Tout de même, Les événements les plus petits tels que les lymphocytes se regroupent au centre du frottis, les plus volumineux (polynucléaires et monocytes) sont entraînés dans les franges et la queue. Les hématies observées dans la zone d'épaisseur idéale, doivent être étalées en couche monocellulaire; leurs contours doivent être réguliers et leur coloration rose.

4- **Etude de la morphologie des cellules hématopoïétiques :**

➤ **Etude de la morphologie des hématies :**

- **Les hématies normales :** Les hématies ou érythrocytes sont des cellules anucléées dont la forme ressemble à un disque biconcave.
- **Les hématies anormales :**

Anomalies de taille

- Microcyte : hématies de petite taille
- Macrocyte : hématies de grande taille
- Anisocytose : présence d'hématies de taille différente

Anomalies de formes

- Sphérocyte : hématies arrondies petites et denses
- Elliptocyte : ouovalocyte, hématies ovoïdes
- Cellule cible : hématie à zone centrale plus foncée
- Drépanocyte : hématies en faucille
- Schizocyte : hématies fragmentées
- Poikyllocytose : hématies de forme variable

Anomalies de coloration

- Hypochromie : hématies anormalement claires

- Anisochromie : coexistence de deux populations, l'une hypochrome, l'autre normochrome
- Polychromatophilie : hématies basophiles (réticulocytes)

➤ **Etude de la morphologie des leucocytes :**

○ **Les granulocytes :**

Le polynucléaire neutrophile

Cellule arrondie, de 12 à 15 μm de diamètre possédant un noyau segmenté en plusieurs lobes réunis par des ponts très fins.

Le polynucléaire neutrophile peut présenter certaines anomalies :

- Macropolycyte : cellule de grande taille avec un noyau hyperlobulé.
- Pleocaryocyte : cellule de taille normale avec un nombre de lobes nucléaires supérieure à 5.

Le polynucléaire éosinophile

Cellule arrondie, légèrement plus grande que le polynucléaire neutrophile caractérisée par des granulations cytoplasmiques de couleur orangée. Le noyau est souvent bilobé.

Le polynucléaire basophile

C'est la cellule la plus petite parmi les granulocytes. Elle est caractérisée par des granulations cytoplasmiques très foncées noirâtres cachant le noyau.

○ **Les cellules mononuclées :**

Le petit lymphocyte :

Cellule ronde de petite taille de 7 μm dont le noyau occupe presque la totalité de la cellule.

Le grand lymphocyte :

Cellule qui diffère du petit lymphocyte par sa taille de 12 à 16 μm et par son noyau réniforme et son cytoplasme basophile.

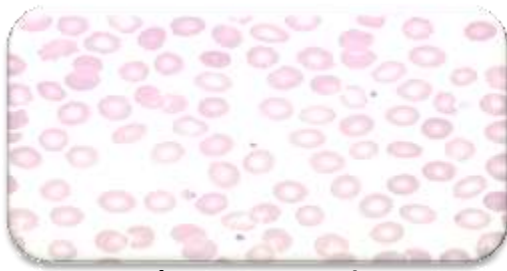
Le monocyte :

Cellule de grande taille 12 à 20 μm , de forme amiboïde et de noyau à forme irrégulière et à chromatine peignée. Son cytoplasme est basophile (gris ciel).

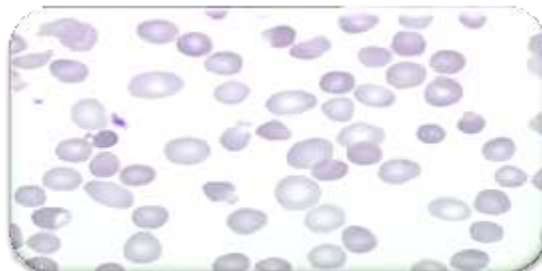
➤ **Etude de la morphologie des plaquettes :**

Les plaquettes apparaissent comme des corpuscules de 1 à 3 μm de diamètre légèrement colorées en pourpre. Dans les frottis exécutés à partir d'un prélèvement recueilli sur EDTA, les plaquettes sont séparées les unes des autres et sont disséminées sur l'ensemble du frottis. Par contre sur les frottis fait à partir du sang capillaire les plaquettes apparaissent agglutinées en amas.

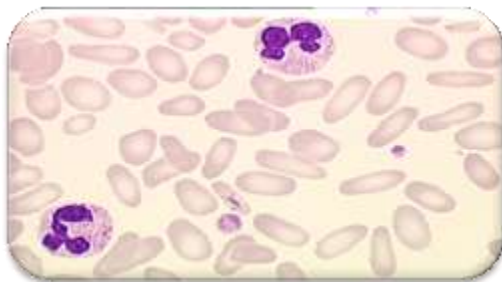
5- Morphologie et variations physiopathologiques des cellules hématopoiétiques :



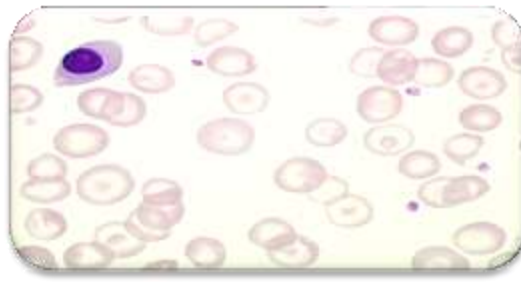
Hématies normales



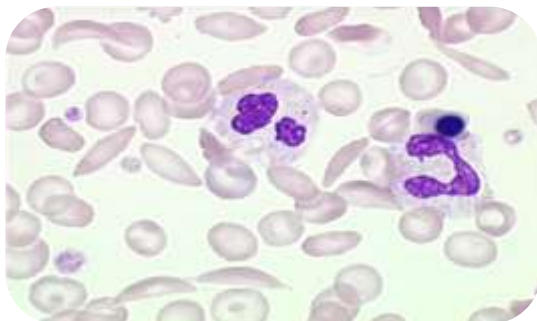
Sphérocyte



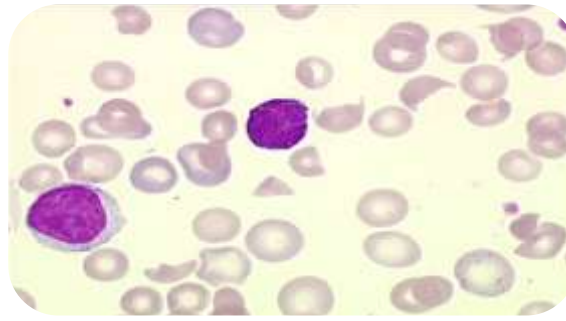
Elliptocyte



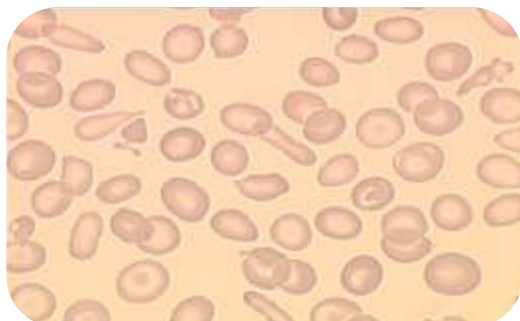
Hématie cible



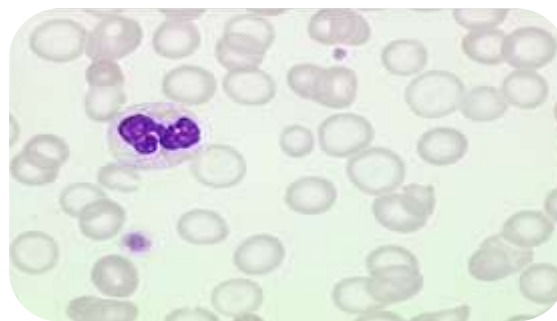
Drépanocytes



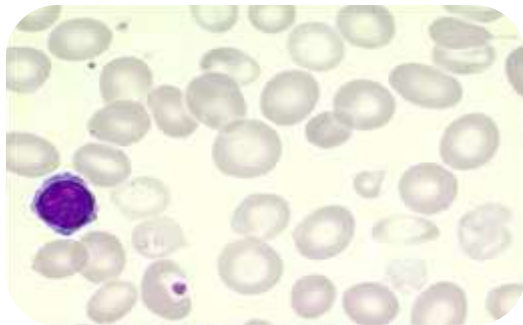
Shizocytes



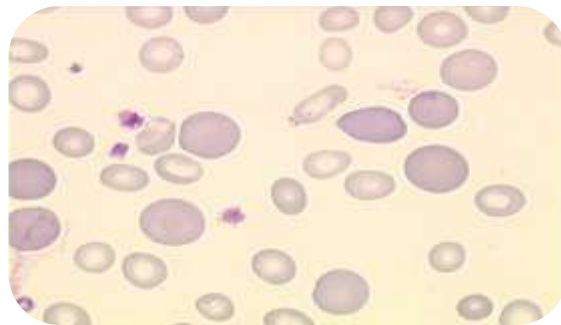
Poikilocytes



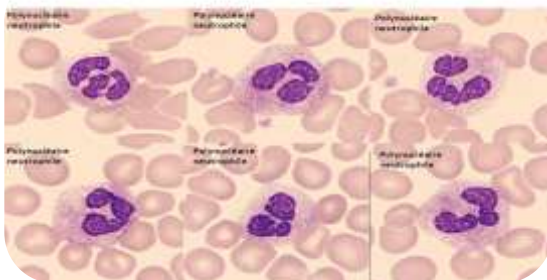
Hypochromie



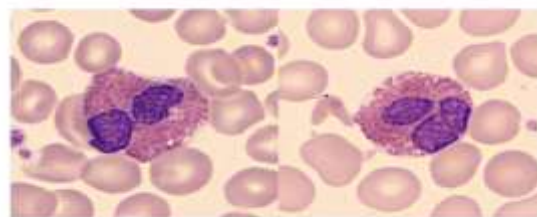
Anisochromie



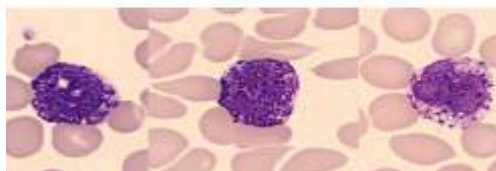
Polychromatophilie



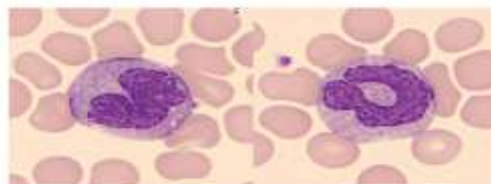
**Polynucléaire
Neutrophile**



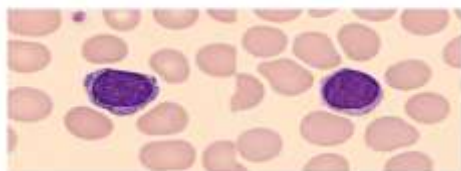
**Polynucléaire
Eosinophile**



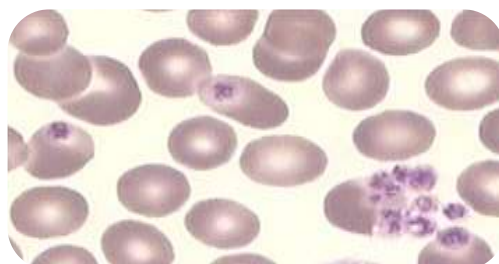
**Polynucléaire
Basophile**



Monocyte



Lymphocyte



Plaquettes

C- La Vitesse de Sédimentation (VS) Technique de WESTERGREEN

➤ Principe :

La vitesse de sédimentation ou (VS) peut être définie comme étant la vitesse avec laquelle chutent les hématies en suspension dans un plasma citraté à l'intérieur d'un tube de Westergreen maintenu verticalement.

La vitesse de sédimentation est longtemps restée le principal marqueur humoral, le moins coûteux de la réaction inflammatoire qui exploré actuellement par le profil protéinique de l'inflammation. Les protéines de l'inflammation qui contribuent à l'accélération de la VS sont le fibrinogène et l'haptoglobine.

➤ Echantillons :

La vitesse de sédimentation est réalisée classiquement chez un sujet à jeun, quoique cette condition n'est pas toujours nécessaire. Le prélèvement est fait sur le sang veineux recueilli sur une solution de citrate trisodique (31,3g/l de citrate de sodium à 2h20), En respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour quatre volumes de sang, on homogénéisé le prélèvement par retournements doux pour éviter l'apparition de caillots. Une agitation intense provoque l'hémolyse.

➤ Matériel :

- Tubes de Westergreen
- Support spécial à sédimentation pour VS

➤ Mode opératoire :

Après une homogénéisation saigneuse du prélèvement, il faut aspirer le sang citraté dans le tube de Westergreen jusqu'au repère zéro, tout en évitant la formation de bulles d'air. Puis, on place le tube bien vertical sur son support, à la température ambiante à l'abri des vibrations et de la lumière intense et directe. Après 1 heure, on lit la hauteur du plasma surnageant depuis la base de ménisque supérieure jusqu'au sommet de la colonne d'hématies. Le résultat est exprimé en millimètre (mm), ce qui correspond à la distance parcourue par les globules rouges en une heure.

➤ Valeurs normales :

Tableau 7: Valeurs normales de la Vitesse de sédimentation

	Homme	Femme
Adultes	3 à 15 mm\ h	7 à 20 mm\ h
Enfants	0 à 10 mm\ h	0 à 10 mm\ h

Il faut savoir que la vitesse de sédimentation varie avec l'âge et le sexe, ce qui a poussé certains auteurs à fixer un seuil, au-delà duquel on considère le chiffre obtenu comme pathologique.

Homme : Age en années\ 2 (mm)

Femme : Age en années + 10\ 2 (mm)

➤ **Variations physiopathologiques :**

Concernant l'interprétation de la vitesse de sédimentation, il faut savoir que c'est un test non spécifique, imprécis et indiqué surtout dans la surveillance de l'évolution d'une affection à composante inflammatoire.

Tableau 8 : Variations physiopathologiques de la Vitesse de Sédimentation

	AUGMENTATION	DIMUNITION
Vitesse de Sédimentation	La grossesse L'âge Maladies rhumatismales Tuberculose Infections Néoplasies Maladies dégénératives	Polyglobulie Hémoconcentration

L'élévation de la vitesse de sédimentation n'est pas toujours due à l'augmentation des protéines de l'inflammation, mais peut être provoquée par d'autres mécanismes

- + Facteurs globulaires (anémie)
- + Hyperlipoprotéïnémie
- + Insuffisance rénale
- + Hormones (grossesse, contraceptifs oraux)

Chapitre II : HEMOSTASE

➤ **Définition :**

L'hémostase est l'ensemble des mécanismes mis en jeu pour colmater la fuite, l'arrêt des hémorragies en cas de rupture de la continuité de la paroi vasculaire, la formation locale d'un caillot et sa dissolution.

L'hémostase est divisée en plusieurs étapes, qui se couvrent particulièrement.

On distingue:

- L'hémostase primaire : dure 3 à 5 minutes et aboutit à l'agrégation des plaquettes et la formation du clou plaquettaire.
- L'hémostase secondaire : ou coagulation plasmatique, dure de 5 à 10 minutes permet la formation du caillot de fibrine.
- Génération de la prothrombinase : par l'aboutissement de 2 voies différentes appelées extrinsèque et intrinsèque.
- Formation de thrombine : ou la transformation de la prothrombine en thrombine par le complexe prothrombinase.
- Formation de fibrine : ou la transformation du fibrinogène en fibrine.
- La fibrinolyse : dure 48 à 72 heures permet la dissolution du caillot de fibrine et retour de la circulation à la normale.

➤ **Matériel :**

- Centrifugeuse
- Bain-marie
- Micropipette réglable (50-200 µl)
- Portoir pour tube à hémolyse
- Chronomètre
- Crochets
- Embouts pour micropipettes.

A- Taux de Prothrombine

➤ **Principe :**

Le taux de prothrombine mesure le temps de recalcification d'un plasma citraté en présence d'un excès de thromboplastine tissulaire facteur (III).

Il renseigne sur l'activité des facteurs II, V, VIII et X de la coagulation. C'est une méthode globale d'exploration de la coagulation extrinsèque en voie exogène.

➤ **Echantillons :**

Classiquement, le temps de Quick est réalisé chez un sujet à jeun, cette précaution, n'est pas toujours nécessaire.

Le prélèvement est réalisé par ponction veineuse franche. Il est conseillé d'éviter la stase veineuse (un garrot prolongé ou trop serré) et l'aspiration à la seringue.

Le prélèvement se fait sur citrate trisodique (31,3g par l de citrate de sodium à 2h20), en respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour neuf volumes du sang. On le centrifuge à 4000 tours par min pendant 15min environ pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le test devra être effectué dans un délai n'excédant pas 4 heures ou plus après le prélèvement.

➤ **Réactifs :**

Thromboplastine calcique à reconstituer selon les recommandations du fabricant.

➤ **Mode opératoire :**

Il s'agit d'une technique en un seul temps, on introduit dans un tube à hémolyse à 37°C :
Plasma (témoin, malade ou contrôle) : 100 µl
A maintenir 2 min à 37°C
Thromboplastine calcique préalablement 200 µl
Incubée 15 min à 37 °C, déclencher immédiatement le chronomètre, Agiter, en remuant le tube à l'aide d'un crochet et noter les temps de coagulation pour les malades et le témoin.

➤ **Valeurs Normales :**

Le temps de Quick s'exprime par comparaison à un témoin. Il varie entre 11 et 13 secondes, habituellement, on exprime le temps de Quick en pourcentage par rapport à un plasma normal, on l'appelle alors taux de Prothrombine ou (TP). Il varie entre 70 et 100%.

➤ **Variations Physiopathologiques :**

Les taux supérieurs à 100% n'ont pas de signification pathologique et sont considérés comme normaux.

Les taux inférieurs à 70% peuvent orienter vers :

- Un déficit en Facteurs (II, V, VII ou X).
- Une atteinte hépatique ou une avitaminose K.
- Maladie hémorragique de nouveau né.
- Une hypofibrinogénémie.
- Un traitement anticoagulant par les anti vitamines k.
- La présence d'anticoagulants circulants (anti II, V, VII, X) ou antiprothrombinase.

Au cours des traitements anticoagulants oraux (anti vitamines k), la zone thérapeutique du TP varie en fonction des réactifs utilisés de 35% à 15 % environ. Pour remédier à ce manque de standardisation, il est actuellement proposé d'exprimer les résultats en I.N.R (International Normalised Ratio) qui tient compte des différences de réactifs et permet de standardiser les résultats grâce à l'introduction d'un coefficient qui sera fourni par chaque fabricant de réactif

R = Temps de malade \ Temps de témoin

$$\text{INR} = (\text{R})^{\text{isi}}$$

Isi = index de sensibilité internationale déterminé vis-à-vis de la thromboplastine de référence, il est donné par le fabricant.

L'isi est déterminé pour chaque lot de thromboplastine calcique et il est indiqué sur le tableau de correspondance Temps de Quick \ INR joint à chaque coffret.

B- Temps de Céphaline Activée (TCA)

➤ **Principe :**

Le temps de céphaline activée est réalisé chez un sujet à jeun ; cette précaution n'est pas toujours nécessaire.

Le prélèvement se fait sur citrate trisodique (31,3g/l de citrate de sodium à 2h20), en respectant la proportion d'un volume d'anticoagulant pour neuf volumes du sang. On le centrifuge à 4000 tours par min pendant 15min environ pour obtenir un plasma pauvre en plaquettes. Le test devra être effectué dans un délai n'excédant pas 4 heures ou plus après le prélèvement.

➤ **Réactifs :**

- Céphaline plus Kaolin à reconstituer selon les recommandations du fabricant.
- Solution de CaCl_2 (0,025 M)

➤ **Mode opératoire:**

Le TCA ou TCK du malade doit être comparé à celui d'un plasma témoin. Le plasma témoin est constitué d'une dizaine de plasmas testés seuls ou en pools.

Il s'agit d'une technique réalisée en deux temps.

Introduction dans un tube à hémolyse placé dans un bain marie à 37 °C :

Plasma (témoin, malade, contrôle) 100µl

Céphaline plus Kaolin 100µl

Mélanger, incuber exactement pendant 3 minutes

En déclenchant le chronomètre, ajouter 100µl de CaCl_2 0,025 M.

Mélanger, puis noter le temps de coagulation.

➤ **Valeurs normales:**

TCK ou TCA : 30 à 40 secondes.

Le temps normal s'exprime par comparaison à un témoin.

On considère qu'un TCA est allongé chez un malade lorsqu'il dépasse de 8 à 10 secondes celui d'un témoin normal et ceci à deux reprises.

Un temps inférieur à celui d'un témoin n'a habituellement pas une signification pathologique.

➤ **Variations physiopathologiques :**

Cliniquement devant un syndrome hémorragique, on cherchera un déficit de certains facteurs de la coagulation de la voie endogène.

L'allongement du TCA est interprété en fonction des résultats du temps de Quick.

- TCA allongé et le temps de Quick normal :
- Si l'allongement du TCA est corrigé par l'addition du plasma témoin normal à parties égales, on cherchera alors un déficit éventuel respectivement en facteur anti



hémophilique A (VIII), anti hémophilie B (IX) et en facteur (XI) ; car les hémophilies A ou B représentent la grande majorité des déficits congénitaux de la voie intrinsèque.

- Si l'allongement du TCA n'est pas corrigé par l'addition du plasma témoin normal à parties égales, on cherchera un anticorps anticoagulant circulant.

En absence d'un syndrome hémorragique, on cherchera un déficit en facteur (XII), en kininogènes et en kallicréine à haut poids moléculaire.

- TCA allongé et temps de Quick allongé :
- Insuffisance hépatique sévère
- Afibrinogénémie congénitale.

Chapitre III : IMMUNO-HEMATOLOGIE

D-GROUPAGE SANGUIN ABO :

1- principe

- Il se base sur un Principe d agglutination Ag-Ac sur plaque.
- Une détermination comporte obligatoirement deux réalisations avec une confrontation des résultats et elle doit être réalisée par :
 - deux techniques différentes
 - deux lots de réactifs différents
 - deux techniciens différents
 - Le groupage n'est validé qu'après deux déterminations sur deux prélèvements différents
 - nécessité des témoins : négatif, positif, auto

2- REALISATION : (2 EPREUVES)

✓ **Epreuve Globulaire : épreuve de BETH –VINCENT**

Les hématies à tester sont mises en contact avec des sérums tests connus Anti A, Anti B, Anti AB afin d'identifier les antigènes A et B.

✓ **Epreuve Sérique : épreuve de SIMONIN**

Le sérum à tester est mis en contact avec des hématies tests connues A et B afin d'identifier l'anti A et l'anti B.

✓ **Le groupage RH :**

- **PRINCIPE** : La recherche à la surface des hématies(GR) de l'Ag D à l'aide de sérum test : Anti-D

Hématies+ Anti-D	Agglutination+	RH1+
Hématies +Anti-D	Agglutination -	RH1-

✓ **Le phénotypage érythrocytaire :**

- ✗ Le phénotypage érythrocytaire correspond à la recherche des produits d'expression des gènes de groupes sanguins (antigènes) à la surface des hématies.
- ✗ En pratique clinique transfusionnelle, le phénotypage érythrocytaire concerne aussi bien le receveur que le donneur
- ✗ Le but de ces examens réalisés chez le donneur et le patient est de mettre à disposition du patient des concentrés érythrocytaires compatibles du point de vue antigénique.

Réalisation du groupage sanguin ABO-RH1

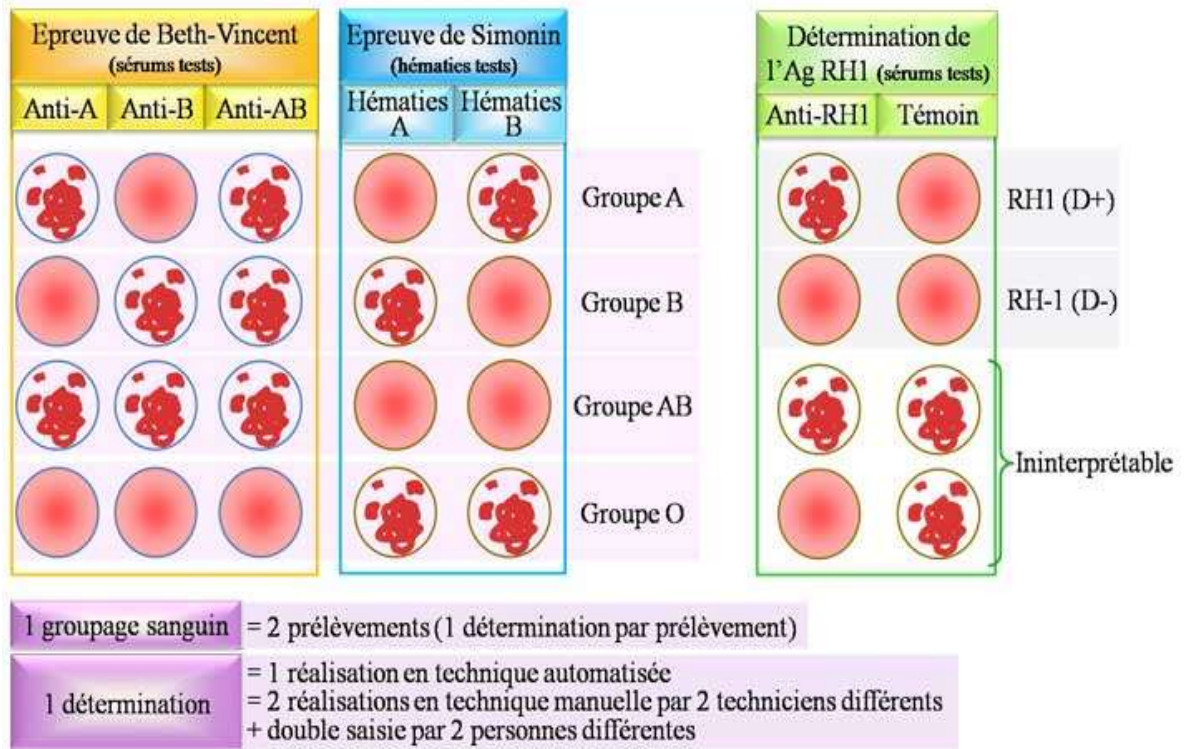


Figure 4 : Réalisation du groupage sanguin (BETH-VINCENT et SIMONIN) et groupe de Rhésus

3- Transfusion sanguine :

Une transfusion sanguine est un acte médical qui consiste à administrer à une personne un produit sanguin provenant du don de sang d'un autre individu par une injection continue par voie intraveineuse, à condition de ne pas avoir une agglutination entre Ag et Ac du même phénotype sanguin.

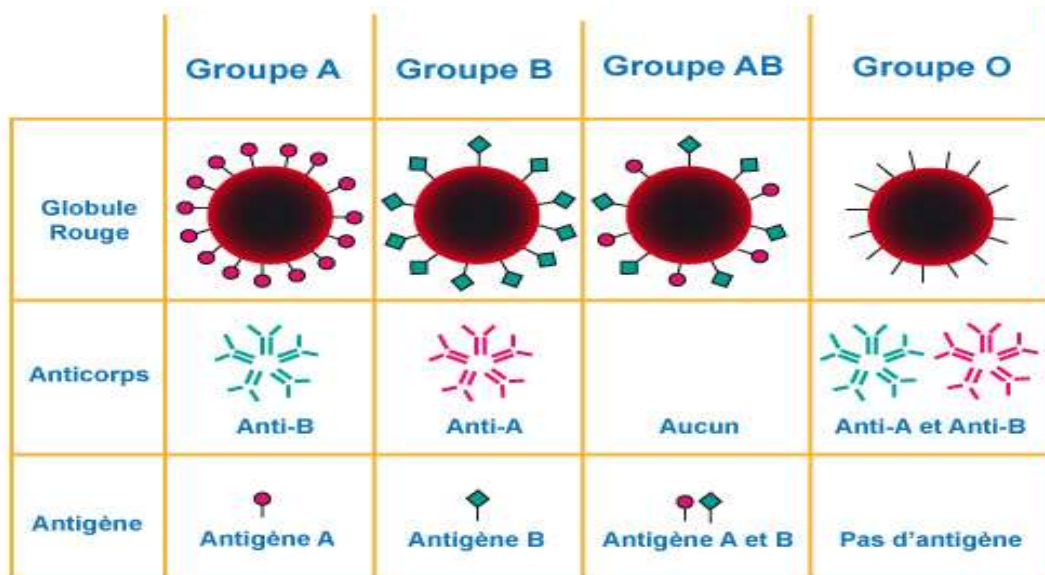


Figure 5 : Types des Ag et Ac retrouvés dans le sang des différents Phénotypes sanguins

		DONNEUR							
		O-	O+	B-	B+	A-	A+	AB-	AB+
RECEVEUR	AB+	●	●	●	●	●	●	●	●
	AB-	●		●		●		●	
	A+	●	●			●	●		
	A-	●				●			
	B+	●	●	●	●				
	B-	●		●					
	O+	●	●						
	O-	●							

Figure 6: Différentes transfusions possibles entre donneur et accepteur



CONCLUSION

Le laboratoire s'occupe des services :

- d'**Hématologie** (Numération Formule Sanguine, Frottis sanguin et vitesse de Sédimentation)
- d'**Hémostase** (temps de Quick, Temps de Prothrombine et Temps de Céphaline Activé)
- d'**Immuno-hématologie** (Groupage sanguin ABO)

Une variation des valeurs d'un ou de plusieurs tests nous prend à demander au patient de refaire ces tests dont ses résultats sont anormales avant d'estimer que ses résultats sont anormales, après cet étape le patient peut réaliser des tests plus spécifique pour identifier les causes de sa maladie, afin d'avoir un traitement médical qui va le permettre l'amélioration et le progrès de son état soit physiologique ou pathologique

En fin, je pense que stage à joué un grand rôle dans l'amélioration de mon pratique, et l'enrichissement de mes connaissances à propos du domaine.

J'ai reçu une formation afin d'apprendre l'utilisation des différents matériel utilisés au Laboratoire, ainsi que le principe et les techniques utilisées dans les différents examens Hématologique (Appareil Sysmex de la NFS, Centrifugeuse), sans oublier les précautions prises lors des analyses biomédicales (Pré-analytique, analytique et post-analytique), ainsi que le respect des conditions d'hygiène personnelle et du matériel au sein du laboratoire.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Boneu B. et Cazenave J.B., 1982. Introduction à l'étude de l'hémostase et de la thrombose.
- Sultan C., 1978. Les examens de Laboratoire. Techniques en hématologie. Ed. flamarion, Médecines-Sciences.
- Sultan C., 1986. Hématologie : Eléments de diagnostic pratique. Documentation scientifique lab. Roland. Marie s.a.
- Société Mégaflex, pour l'appareil Sysmex XT-1800i

WEBOGRAPHIE

- Doctissimo santé
http://www.doctissimo.fr/html/sante/analyses/sa_675_mme.htm
- Laboratoire d'Hématologie du CHU d'ANGERS
<http://hematocell.univ-angers.fr/>
- Linternaute ; Dictionnaire français
<http://www.linternaute.com/dictionnaire/fr/definition/transfusion-sanguine/>

